

⑤

Int. Cl.:

C 07 d

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES PATENTAMT



⑤

Deutsche Kl.: 12 p, 7/01

⑩

⑪

# Offenlegungsschrift 1620 047

⑪

Aktenzeichen: P 16 20 047.8 (M 71381)

⑫

Anmeldetag: 21. Oktober 1966

⑬

Offenlegungstag: 19. März 1970

Ausstellungspriorität: —

⑬

Unionspriorität

⑭

Datum: 24. Oktober 1965

⑮

Land: V. St. v. Amerika

⑯

Aktenzeichen: 505029

⑰

Bezeichnung: Pyrimidin-Nucleoside und Verfahren zu deren Herstellung

⑱

Zusatz zu: —

⑲

Ausscheidung aus: —

⑳

Anmelder: Merck & Co. Inc., Rahway, N. J. (V. St. A.)

Vertreter: Abitz, Dr.-Ing. W.; Morf, Dr. D.; Patentanwälte, 8000 München

㉑

Als Erfinder benannt: Boxer, George Ernst, Westfield;  
Nutt, Ruth Foelsche, Clark; N. J. (V. St. A.)

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): 5. 5. 1969

ORIGINAL INSPECTED

3.70 009 812.1768

19/110

**DR.-ING. WALTER ABITZ**  
**DR. DIETER F. MORF**  
**DR. HANS-A. BRAUNS**

Patentanwälte

1620047

München,

Postanschrift / Postal Address  
8 München 86, Postfach 860109

Pienzenauerstraße 28

Telefon 483225 und 486415

Telegramme: Chemindus München

5. November 1969  
10 043 (M 71 381)

P 16 20 047. 8-44  
Neue Unterlagen

**MERCK & CO., INC.**  
Rahway, New Jersey 07065, V.St.A.

---

**Pyrimidin-Nucleoside und Verfahren  
zu deren Herstellung**

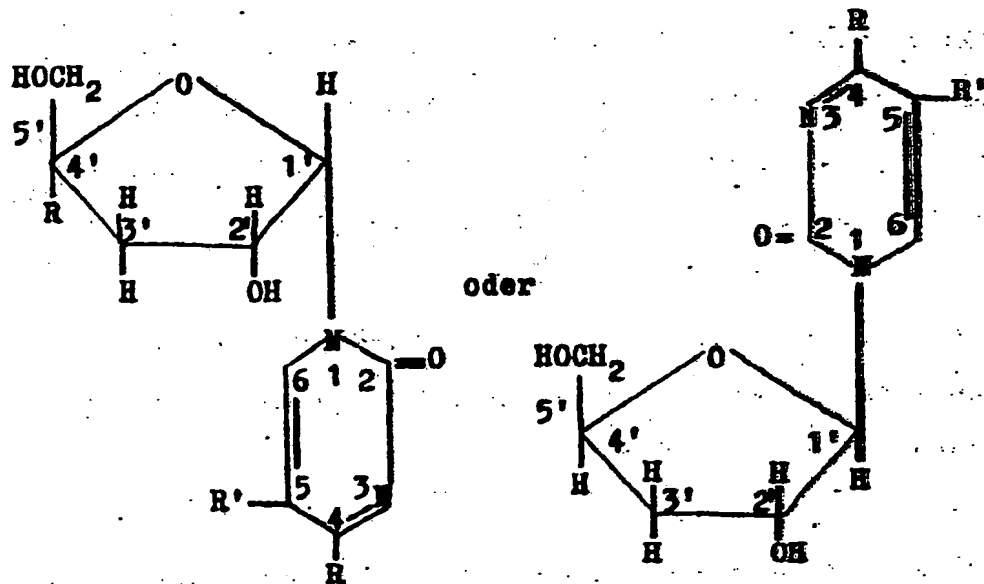
---

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer und nützliche Nucleoside und die dabei erhaltenen Produkte. Sie betrifft insbesondere neue Nucleoside, die selbst nützlich und auch bei der Herstellung anderer komplizierter Nucleoside und Nucleotide verwandbar sind. Die vorliegende Erfindung betrifft speziell ein Verfahren zur Herstellung neuer substituierter Pyrimidinnucleoside und die dabei gebildeten Produkte. Diese Nucleoside sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere von 1-(3-Desoxy- $\beta$ -ribofuranosyl)-pyrimidinen.

BAD ORIGINAL

009812/1768

Die neuen erfindungsgemäßen erhältlichen Verbindungen können durch folgende Strukturformeln wiedergegeben werden:



worin R und R', die gleich oder verschieden sein können, Alkoxy, Hydroxy, Amino oder subst.-Amino und R' zusätzlich noch Wasserstoff, Alkyl oder Halogen bedeuten. R' kann jedoch nicht Wasserstoff sein, wenn R Hydroxy ist.

Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, neue Pyrimidin-3'-desoxynucleoside zu schaffen.

Ein anderes Ziel der Erfindung ist es, neue Pyrimidin-3'-desoxynucleoside zu schaffen, die unter Bildung einer Viel-

zahl von 3'-Desoxynucleosid- und -nucleotidverbindungen umgesetzt werden können. Wenn die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen als Zwischenprodukte verwendet werden, so können sie bei der Herstellung von verschiedenen 3'-Desoxynucleotiden angewendet werden, indem sie mit Phosphorverbindungen umgesetzt werden. Diese Nucleotide können bei der Untersuchung des Nucleinsäurestoffwechsels brauchbar sein.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, ein neues Verfahren zur Herstellung von Pyrimidin-3'-desoxynucleosiden zu liefern.

Weiter ist es ein Ziel, neue Nucleosidverbindungen zu schaffen, die wertvolle antibakterielle Aktivität zeigen.

Ausserdem ist es noch Ziel der Erfindung, ein Gesamtverfahren zur bequemen Umwandlung eines 3'-Desoxyribosuckers zu einem substituierten Pyrimidin-3'-desoxyribofuranosid zu schaffen.

Weitere Ziele der Erfindung werden dem Fachmann aus der folgenden Beschreibung klar.

Typische R- und R'-Gruppen, die gleich oder verschieden sein

können, in den erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen sind Niedrigalkoxyreste, wie Methoxy, Äthoxy und Propoxy, Hydroxyreste, Amino- und Niedrigalkyl-subst.-aminoreste, wie Methylamino, Dimethylamino, Äthylamino, Diäthylamino, Propylamino und Dipropylamino. R' kann zusätzlich auch Wasserstoff, ein Niedrigalkylrest, wie Methyl, Äthyl und Propyl oder Halogen, wie Chlor, Brom, Jod und Fluor, sein.

Sowohl die  $\alpha$ - als auch die  $\beta$ -Anomeren der erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen werden hergestellt, indem ein 3-Desoxyribofuranosylhalogenid mit einem 2,4-Dialkoxypyrimidin behandelt und anschliessend solvolysiert wird. Die Reaktion soll in einem Temperaturbereich von etwa 5 bis etwa 120°C, vorzugsweise zwischen etwa 25 und etwa 60°C, so lange durchgeführt werden, bis die Reaktion vollständig ist. Dies ist gewöhnlich nach etwa mehreren Stunden bis mehreren Tagen der Fall und es soll festgehalten werden, dass die Reaktion umso schneller vollständig ist, je höher der Reaktionstemperaturbereich liegt. Die Reaktion gemäss dem erfindungsgemässen Verfahren wird durch folgende Reaktionsgleichung veranschaulicht:

BAD ORIGINAL

- 4 -  
009812/1768



eine Kombination von beiden, Y bedeutet Niedrigalkyl und R<sup>n</sup> ist Acyl oder substituiertes Acyl. Beispiele für Acylgruppen sind Acetyl, Propionyl, Butyryl, Benzoyl und Naphthanoyl. Beispiele substituierter Acylgruppen sind Toluoyl, Xyloyl und Nitrobenzoyl. Lösungsmittel können Alkohole mit 1 - 4 Kohlenstoffatomen sein.

Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst allgemein die Umsetzung eines 2,4-Dialkoxypyrimidins mit einem Acylblockierten 3-Desoxy-D-ribofuranosylhalogenids unter Bildung eines 1-(acyliertes-3'-Desoxy-D-ribofuranosyl)-pyrimidons. Diese Zwischenprodukte werden dann unter Bildung der erfindungsgemäßen erhältlichen Produkte solvolysiert. Genauer ausgedrückt umfasst das erfindungsgemäße Verfahren in Stufe A die Umsetzung eines 2,4-Dialkoxypyrimidons mit einem Acyl-3-desoxy-D-ribofuranosylhalogenid in im wesentlichen stöchiometrischen Mengen bei einer Temperatur im Bereich von etwa 5 bis etwa 120°C, vorzugsweise zwischen etwa 25 und etwa 60°C, bis die Reaktion vollständig ist. Dieser Reaktionsschritt wird in einem geeigneten Lösungsmittel durchgeführt. Die Auswahl des Lösungsmittels ist nicht wichtig, solange es sich um ein inertes Lösungsmittel handelt. Beispiele derartiger Lösungsmittel sind Methylenchlorid, Benzol, Diäthyläther, Dibutyläther, Dioxan, Tetrahydrofuran, Cyclohexan und dergleichen.

- 6 -  
009212/1768

BAD ORIGINAL

Das bevorzugte Lösungsmittel ist Methylenchlorid. Die Reaktion ist normalerweise nach ein paar Stunden bis zu mehreren Tagen beendet, was von der Wahl der Reaktionstemperatur abhängt. Hat man das Reaktionsprodukt aus Stufe A erhalten, so wird dann diese Verbindung in Stufe B in Gegenwart eines sauren und/oder basischen Katalysators in einem geeigneten Lösungsmittel bei einer Temperatur in etwa dem gleichen Temperaturbereich wie in Stufe A und in einer Reaktionszeit von etwa ein paar Minuten bis zu mehreren Tagen, was von der Art des verwendeten Katalysators und der verwendeten Lösungsmittel abhängt, solvolysiert. Beispiele von sauren und basischen Katalysatoren sind alle starken Mineralsäuren, wie Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure und dergleichen, und Basen wie Alkali- und Erdalkalimetalle und die entsprechenden Alkylate, Lösungen von Ammoniak, Amine und substituierte Amine. Es wurde gefunden, dass saure Katalysatoren länger brauchen um die Reaktion zu vervollständigen als basische Katalysatoren. Das bevorzugte Lösungsmittel ist Methanol.

Beispiele von neuen Verbindungen, die nach dem erfindungsgemässen Verfahren erhalten werden können, wobei das Verfahren jedoch nicht auf diese Verbindungen beschränkt ist, sind die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen von 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-



4-methoxy-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-propoxy-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-chlor-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-brom-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-iod-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methylamino-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-dimethylamino-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-diethylamino-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-propylamino-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4,5-dimethoxy-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methoxy-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-chlor-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-ethyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-ethyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-

Methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-Methyl-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-brom-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon, 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-brom-2(1-H)-pyrimidon und 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon.

Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens, sollen dieses jedoch in keiner Weise beschränken.

#### Beispiel 1

1-(2,5-Di-O-benzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon

Eine Lösung von 2,5-Di-O-benzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosylbromid (hergestellt aus 2 g (5,61 mMol) Methyl-2,5-di-O-benzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosid) in 20 ml trockenem Methylenchlorid wird mit einer gerührten Lösung von 1,9 g (12,0 mMol) 2,4-Dimethoxy-5-fluorpyrimidin in 80 ml trockenem Methylenchlorid behandelt. Es wird 80 Stunden bei 25°C gerührt. Die Reaktion wird durch Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Äthylacetat/Methylenchlorid (1:4) ver-

folgt. Nach 80 Stunden werden keine weiteren Änderungen in der Zusammensetzung der Reaktionslösung mehr bemerkt.

Die Reaktionslösung wird bei vermindertem Druck konzentriert. Das zurückbleibende Öl (5,7 g) wird in 150 ml Äther gelöst, es wird filtriert und mit 3 x je 30 ml kalter 5 %iger Chlorwasserstoffsäure, einmal mit 10 ml 10 %igem Kaliumbicarbonat und einmal mit 20 ml Wasser extrahiert. Die getrocknete ( $\text{MgSO}_4$ ) Ätherlösung wird bei vermindertem Druck konzentriert. Dünnschicht-Chromatographie und IR-Spektrum des zurückbleibenden Öles (3,7 g) zeigen, dass viel von dem überschüssigen Ausgangspyrimidin durch das saure Waschen entfernt worden ist. Das Öl wird in Benzol an einer kurzen Aluminiumoxydsäule chromatographiert. Dieses Material wird aus 20 ml Benzol und 5 ml Petroläther kristallisiert. Es werden 1,03 g (39 %) 1-(2,5-Di-O-benzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidin erhalten,  $P = 148 - 150^\circ\text{C}$ . Die Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Chloroform zeigt einen einzigen Flecken (Joddampf) mit einem  $R_f = 0,80$ .

$[\alpha]_{578} = +27^\circ$ ,  $[\alpha]_D = +24^\circ$  ( $C=0,64$  in  $\text{CHCl}_3$ ),  $\lambda_{\text{tOH inf}} =$

287  $\mu$  ( $\epsilon = 6\ 190$ ),  $\lambda_{\text{tOH max}} = 282,5 \mu$  ( $\epsilon = 7\ 080$ ),

277,5 ( $\epsilon = 6\ 700$ ), 229  $\mu$  ( $\epsilon = 31\ 100$ ).

BAD ORIGINAL

M

In 0,1 n-Natriumhydroxyd tritt keine bedeutende Spektralverschiebung auf.

Analyse  $C_{24}H_{21}FN_2O_7$  (468,4):

berechnet:	C 61,53	H 4,52	N 5,98 %
gefunden:	61,67	4,34	6,00 %

### Beispiel 2

#### 5-Fluor-3'-desoxyuridin

Eine Lösung von 234 mg (0,5 mmol) 1-(2,5-Di-O-benzyloxy-3'-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidin, hergestellt wie in Beispiel 1, in 5 ml Methanol und 0,6 ml 2,5 n-Natriumhydroxyd (1,5 mmol) werden 1,5 Stunden auf 60°C erhitzt. Die Lösung wird zur Trockene konzentriert und der Rückstand (428 mg) wird in 10 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird mit 1 g feuchtem Dowex 50 (H<sup>+</sup>)-Harz behandelt und 10 Minuten gerührt, wobei während dieser Zeit Benzoesäure ausfällt. Das Harz und die Benzoesäure werden entfernt und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden ihrerseits mit dreimal je 15 ml Äther gewaschen und bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Zur Entfernung von überschüssigem Wasser wird vom Rückstand dreimal Äthanol abdestilliert. Der Rückstand

wird in Athanol gelöst und mit Äther behandelt. Eine geringe Menge Feststoff (22,5 mg,  $P = 145 - 203^{\circ}\text{C}$ ) fällt aus und wird abfiltriert. Das Lösungsmittel wird vom Filtrat abdestilliert und der Rückstand wird mit Äther verrieben, wobei sich 80 mg (65 %) 5-Fluor-3'-desoxyuridin mit einem  $P = 166,5 - 167,5^{\circ}\text{C}$  ergeben. Der Schmelzpunkt ändert sich nach dreistündigem Trocknen bei  $78^{\circ}\text{C}$  zur Analyse nicht. Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt einen UV-absorbierenden Fleck mit einem  $R_f = 0,82$ .

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 271 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 8\,000$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} (0,1 \text{ n NaOH}) = 268 \text{ m}\mu$

( $\epsilon = 7\,450$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-H}_2\text{O}(1:1)} = 271 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 8\,950$ ,

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-H}_2\text{O}(1:1)} (0,1 \text{ n NaOH}) = 271 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 7\,060$ ),

$\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}} = 5,85$ ,  $\lambda_{\text{Schulter}}^{\text{Nujol}} = 5,92, 605 (\epsilon = 0)$ ,

$[\alpha]_D = +30^{\circ}$ ,  $[\alpha]_{578} = +33^{\circ}$  ( $c = 1,1$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Analyse  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_5$  (246,2):

berechnet: C 43,90 H 4,50 N 11,38 %

gefunden: 43,69 4,69 11,05 %

Beispiel 33'-Desoxy-5-fluorocytidin

Eine Mischung von 94 mg (0,2 mmol) 1-(2,5-Di-O-benzoyl-3'-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 1, und 1,4 ml Äthanol, bei 0°C mit Ammoniak gesättigt, wird in einem geschlossenen Rohr 12 Stunden auf 100°C erhitzt. Das Rohr wird geöffnet und die Lösung wird filtriert. Das Filtrat wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Bei der Zugabe von 3 ml Wasser zu dem Rückstand (104 mg) scheidet sich ein Feststoff (Benzamid) ab. Die Mischung wird mit dreimal je 2 ml Chloroform gewaschen und die Wasserschicht wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Der Rückstand (52 mg) wird durch Auflösen in 1 ml Wasser/Äthanol und Zugabe von 0,2 ml 5 n-Schwefelsäure kristallisiert. Die Mischung wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Zwei Teile Äthanol werden vom Rückstand abdestilliert, der dann aus 2 ml Äthanol durch Zugabe von 5 ml Äther kristallisiert wird. Es werden 46,4 mg (68 %) 3'-Desoxy-5-fluorocytidin-hydrogensulfat mit einem  $F = 175 - 178^\circ\text{C}$  erhalten.

$$[\alpha]_D = +41^\circ, [\alpha]_{578} = +45^\circ (c = 0,51 \text{ in } \text{H}_2\text{O}), \lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}} = 282 \text{ m}\mu (\epsilon = 8230), 235 \text{ m}\mu (\epsilon = 7960), \lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}} (\text{pH } 13) =$$

282 m $\mu$  ( $\epsilon$  = 8 230),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O (pH 1)}}$  = 292,5 m $\mu$  ( $\epsilon$  11 500).

Analyse  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$  (343,3):

berechnet: C 31,50 H 4,11 N 12,24 S 9,3 %

gefunden: 31,23 4,18 12,16 9,94%

#### Beispiel 4

1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon und 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2-(1-H)-pyrimidon

Eine Lösung von 4,47 g (28,8 mmol) 2,4-Dimethoxy-5-methylpyrimidin in 240 ml trockenem Methylenchlorid wird gerührt und mit 6,67 g (13,5 mmol) 2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosylbromid behandelt. Der Lauf der Reaktion wird durch Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Chloroform verfolgt. Nach 72 Stunden wird die Reaktionsmischung zu einem festen Rückstand (10,6 g) konzentriert. Beim Auslaugen des Rückstands mit Äther werden 3,6 g Ausgangspyrimidin, verunreinigt mit einer geringen Menge des  $\alpha$ -Anomeren des gewünschten Produkts, entfernt. Der Äther-unlösliche Feststoff (7,0 g) wird in Chloroform gelöst und auf 70 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Nach der Elution einer geringen Menge unumgesetzten Pyrimidins

wird von der Säule eine Fraktion erhalten, die 980 mg fast reines  $\beta$ -Anomeres enthält. Beim Umkristallisieren dieses Materials aus Benzol/Petroläther ergeben sich 510 mg Produkt mit einem  $F = 163 - 167^\circ\text{C}$ . Beim zweiten Umkristallisieren aus Äthylacetat/Petroläther ergeben sich 420 mg gereinigtes 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon mit einem  $F = 163 - 167^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 261 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 28\,200$ ).

Analyse  $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{11}$ :

berechnet:	C 54,15	H 4,00	N 10,11 %
gefunden:	54,16	4,38	10,20 %

Weitere Elution der Kolonne mit Chloroform ergibt zwei zusätzliche Fraktionen (1,89 g) mit überwiegend  $\alpha$ -Anomeren, die jedoch etwas  $\beta$ -Anomeres enthalten. Die nächste Säulenfraktion liefert 520 mg fast reines  $\alpha$ -Anomeres. Beim Umkristallisieren dieses Materials aus Methanol ergeben sich 500 mg Produkt mit einem  $F = 217 - 218^\circ\text{C}$ . Beim zweiten Umkristallisieren aus Chloroform/Methanol ergeben sich 440 mg 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, mit einem  $F = 218 - 219^\circ\text{C}$ .

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 260 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 26\,200$ ).

Analyse:

gefunden: C 54,09 H 4,08 N 9,90 %



16

Mehrmaliges Unkristallisieren der  $\alpha$ -reichen Fraktionen ergibt weitere 710 mg  $\alpha$ -Anomeres mit einem  $F = 218 - 220^{\circ}\text{C}$ .

Alle übrigen Fraktionen und die Mutterlaugen der Kristallisationen werden vereinigt und an einer kurzen Aluminiumoxydsäure in Chloroform erneut chromatographiert. Die Kristallisation ausgewählter Fraktionen ergibt weitere Mengen reiner  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere. Insgesamt werden 1,3 g (18 %)  $\alpha$ - und 2,07 g (28 %)  $\beta$ -1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon erhalten.

#### B e i s p i e l 5

##### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-methylcytosins

Eine Mischung von 400 mg (0,72 mmol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 4, und 5 ml Methanol, bei  $0^{\circ}$  mit Ammoniak gesättigt, wird in einem geschlossenen Rohr 16 Stunden auf  $100^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Die Reaktionslösung wird zur Trockene konsentriert und der Rückstand wird mit 25 ml Wasser behandelt. Das unlösliche p-Nitrobenzamid wird entfernt und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die

A7

Waschflüssigkeiten werden mit dreimal je 20 ml Chloroform extrahiert und zur Trockene konzentriert. Der Rückstand wird dreimal aus Methanol/Äther kristallisiert, wobei sich 90 mg (52 %) 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-methylcytosin ergeben. Die hergestellte Verbindung hat folgende physikalische Eigenschaften:

$P = 223 - 226^{\circ}\text{C}$ , spezifische Drehung  $[\alpha]_D = +30^{\circ}$ ,  $[\alpha]_{578} = +32^{\circ}$  ( $c = 0,59$  in  $\text{H}_2\text{O}$ )  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 1} = 288 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 12\,500$ ), 214 (10 950),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 7} = 278 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 8\,620$ ), 225 (inf) (8 760), 212 (12 650),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 11} = 278 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 8\,620$ ), 225 (inf) (8 830), 212,5 (12 650).

Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt eine Zone vom  $R_f = 0,76$ .

Analyse  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4$ :

berechnet:	C 49,78	H 6,27	N 17,42 %
gefunden:	49,56	6,27	17,42 %

#### Beispiel 6

Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidons

Eine Suspension von 960 mg (1,73 mmol) 2,5-Di-O-p-nitro-

18

benzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 4, in 21 ml trockenem Methanol wird mit einer Lösung von 60 mg (2,6 mMol) Natrium in 3 ml Methanol behandelt. Die Lösung wird 1,25 Stunden am Rückfluß gehalten, zur Trockene konzentriert und es werden 30 ml Wasser zugegeben. Niedergeschlagenes Methyl-p-nitrobenzoat wird entfernt und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden mit 3 Anteilen Äther extrahiert und zur Trockene konzentriert. Beim Umkristallisieren des Rückstands aus Methanol durch Zugabe von Äther ergeben sich insgesamt 292 mg (66 %) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon. Die hergestellte Verbindung hat folgende physikalische Eigenschaften: P = 185 - 187°C. Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt einen Flecken von  $R_f = 0,9$ .

$$[\alpha]_D = -157^\circ, [\alpha]_{578} = -166^\circ (c = 0,99 \% \text{ in } H_2O),$$

$$\lambda_{H_2O}^{max} = 282, 204 \text{ m}\mu (\epsilon = 6\ 860, 18\ 900), \lambda_{H_2O}^{inf} = 215 \text{ m}\mu$$

$$(\epsilon = 12\ 800).$$

Analyse  $C_{11}H_{16}N_2O_5$ :

berechnet: C 51,56 H 6,29 N 10,93 %

gefunden: 51,42 6,07 11,04 %

BAD ORIGINAL

009312/1768

13

Beispiel 7Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidons

Eine Lösung von 1,54 g (2,78 mMol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 4, in 34 ml trockenem Methanol wird mit einer Lösung von 100 mg (4,35 mMol) Natrium in 3 ml trockenem Methanol behandelt und die Mischung wird 1 Stunde am Rückfluß gehalten. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt und der feste Rückstand wird mit 50 ml Wasser behandelt. Methyl-p-nitrobenzoat wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wird mit 15 g (feucht) Dowex 50 W ( $H^+$ )-Harz zur Entfernung der Natriumionen behandelt. Der pH der Lösung fällt von 11,6 auf 3,3 im Verlauf von 5 Minuten. Das Harz und die niederschlagene p-Nitrobenzoesäure wird abfiltriert und gut mit Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate und Waschflüssigkeiten werden mit dreimal je 100 ml Äther gewaschen und die Wasserschicht wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Zweimaliges Umkristallisieren des festen Rückstands (640 mg,  $F = 193 - 196^\circ$ ) aus Methanol ergibt 258 mg 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon mit einem  $F = 196 - 198^\circ$ .

$$[\alpha]_D = + 25^\circ, [\alpha]_{278} = + 27^\circ (C = 0,765 \% \text{ in } H_2O),$$

$\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}} = 280, 204 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 7\,570, 21\,900$ ),  $\lambda_{\text{inf}}^{\text{H}_2\text{O}} = 215 \text{ nm}$   
( $\epsilon = 13\,800$ ).

Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt eine ultraviolett absorbierende Zone bei einem  $R_f = 0,88$ .

Analyse  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ :

berechnet: C 51,56 H 6,29 N 10,93 %

gefunden: 51,26 6,33 10,96 %

### Beispiel 8

#### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-5-methyluracils

Eine Lösung von 279 mg (1,09 mmol) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 6, in 10 ml trockenem Methanol wird mit 1 ml 30 %igen Chlorwasserstoff in Methanol behandelt. Die Lösung wird 6 Tage bei 25°C gehalten, wonach keine weitere Änderung des Ultraviolettabsorptionsspektrums mehr beobachtet wird. Die Lösung wird zur Trockene konzentriert und bei der Kristallisation des Rückstands aus Methanol durch Zugabe von Äther ergeben sich 200 mg (76 %) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-5-methyluracil. Die hergestellte Verbindung hat

91

einen  $F = 188 - 191^{\circ}\text{C}$ . Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt einen Flecken mit einem  $R_f = 0,86$ .

$[\alpha]_D = -112^{\circ}$ ,  $[\alpha]_{578} = -118^{\circ}$  ( $C = 0,17\%$  in Wasser),

$\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 1} = 269 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 9\,930$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 7} = 269 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 9\,960$ )

$205 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 9\,190$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 13} = 269 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 7\,610$ ),

$\lambda_{\text{inf}}^{\text{pH } 13} = 218 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 11\,000$ ).

Analyses  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ :

berechnet: C 49,58 H 5,83 N 11,57 %

gefunden: 49,72 6,07 11,69 %

### Beispiel 9

#### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-methyluracils

Eine Suspension von 395 mg (1,54 mmol) 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 7, in 15 ml Methanol wird mit 1,5 ml 30,6 %igem (Gew./Gew.) Chlorwasserstoff in Methanol behandelt und die Lösung wird bei  $25^{\circ}$  gehalten. Nach 6 Tagen wird keine weitere Änderung im Ultraviolettabsorptionsspektrum mehr beobachtet. Die Lösung wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Ein Anteil Methanol und drei darauffol-

gende Anteile Benzol werden von dem Rückstand bei vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand ergibt, kristallisiert aus 1 ml Methanol und 3 ml Äther, 300 mg (81 %) 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-5-methyluracil, das nach dem Trocknen bei vermindertem Druck und 78° einen F = 96 - 100° aufweist, sich verfestigt und bei 155 - 157° erneut schmilzt. Für die Analyse wird eine Probe zweimal aus Methanol/Äther umkristallisiert und bei 56° zur Gewichtskonstante getrocknet.

$$[\alpha]_D = +1,4^\circ, [\alpha]_{578} = +2,3^\circ (c = 0,44 \text{ in } H_2O),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{H_2O} = 269 \text{ m}\mu (\epsilon = 9\,450), \lambda_{\text{max}}^{pH\,1} = 269 \text{ m}\mu (\epsilon = 9\,450),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{pH\,3} = 268 \text{ m}\mu (\epsilon = 7\,000).$$

Analyse  $C_{10}H_{14}N_2O_3$ :

berechnet: C 49,58, H 5,83 N 11,57 %

gefunden: 49,49 5,84 11,22 %

### Beispiel 10

Herstellung des 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2(1-H)-pyrimidons und des 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2(1-H)-pyrimidons

Eine Lösung von 1,51 g (10,8 mmol) 2,4-Dimethoxypyrimidin

in 60 ml trockenem Methylenchlorid wird, mit einer Lösung von 2,5 g (5,05 mmol) 2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosylbromid in 20 ml trockenem Methylenchlorid behandelt. Die Lösung wird 5 Tage bei 25° gerührt, obwohl die Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Chloroform nach 3 Tagen eine sehr geringe Änderung der Zusammensetzung anzeigt. Die Reaktionslösung wird mit zweimal je 25 ml 5 %iger Chlorwasserstoffsäure und mit 25 ml 10 %igem Kaliumbicarbonat und 10 ml gesättigtem Natriumchlorid gewaschen. Die Methylenchloridlösung wird bei vermindertem Druck konzentriert und die zurückbleibende glasartige Masse (2,9 g) wird an einer kurzen Säule mit 60 g Aluminiumoxyd unter Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel chromatographiert. Es werden Fraktionen aufgrund ihres Verhaltens bei der Dünnschicht-Chromatographie zusammengefaßt. Ein Anteil (760 mg) ergibt aus Methanol 500 mg Feststoff mit einem  $P = 175 - 190^\circ$ . Er wird aus Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert und es werden 290 mg (11 %) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2(1-H)-pyrimidon mit einem  $P = 193 - 194^\circ$  erhalten. Die Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Chloroform zeigt bei der Behandlung mit Joddampf einen Flecken ( $R_f = 0,41$ )  $[\alpha]_D = -9,2^\circ$  ( $C = 1,09$  in  $CHCl_3$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 262 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 30\,000$ ).



Analyse  $C_{24}H_{20}N_4O_{11}$ :

berechnet: C 53,34 H 3,73 N 10,37 %

gefunden: 53,47 4,02 10,00 %

Aus den Filtraten und einer anderen Säulenfraktion werden weitere 350 mg (Gesamtausbeute 24 %) des gleichen Produkts ( $F = 191 - 193^\circ$ ) nach mehrmaligem Umkristallisieren erhalten.

Eine zweite Säulenhauptfraktion (1 g) ergibt nach dem Umkristallisieren aus Benzol 640 mg (24 %) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2(1-H)-pyrimidon mit einem  $F = 184 - 186^\circ$ . Die Dünnschicht-Chromatographie auf Aluminiumoxyd in Chloroform zeigt nur einen Flecken ( $R_f = 0,32$ ).

$[\alpha]_D = -237^\circ$ ,  $[\alpha]_{578} = -252^\circ$  ( $C = 1,02$  in  $CHCl_3$ ),

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 261 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 28.400$ ).

Analyse  $C_{24}H_{20}N_4O_{11}$ :

berechnet: C 53,34 H 3,73 N 10,37 %

gefunden: 53,3 3,97 10,31 %

45

Beispiel 11Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidons

Eine Suspension von 760 mg (1,4 mMol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 10, in 17 ml trockenem Methanol, wird mit einer Lösung von 60 mg (2,6 mMol) Natrium in 3 ml trockenem Methanol behandelt. Die Mischung wird 1 Stunde am Rückfluß gehalten und das Methanol wird bei vermindertem Druck entfernt. Etwa 30 ml Wasser werden zu dem Rückstand hinzugefügt und das unlösliche Methyl-p-nitrobenzoat wird abfiltriert und mit mehreren Anteilen Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeit werden vereinigt und mit 7g feuchtem Dowex 50 ( $H^+$ )-Harz behandelt. Das Harz wird entfernt und mit Wasser gut gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden mit drei Anteilen Chloroform extrahiert und die Wasserschicht wird bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Drei kleine Mengen Methanol werden zur Entfernung von überschüssigem Wasser vom Rückstand abdestilliert. Der getrocknete Rückstand (320 mg) hat einen  $F = 188 - 205^\circ$ . Umkristallisieren dieses Materials aus 9 ml Methanol ergibt 183 mg Produkt mit einem  $F = 199 - 205^\circ$ . Eine zweite Fraktion (85 mg), die aus dem Filtrat erhalten wird, hat einen  $F = 165 - 185^\circ$ . Umkristallisieren der ersten Fraktion aus Methanol ergibt 156 mg (46 %) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-

009812/1768

BAD ORIGINAL

(1-H)-pyrimidon mit einem  $F = 209 - 211^\circ$ .

$[\alpha]_D = -182^\circ$ ,  $[\alpha]_{578} = -194^\circ$  ( $c = 0,263$  in  $H_2O$ ),

$\lambda_{H_2O}^{max} = 204, 275 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 6\,940, 17\,900$ ),  $\lambda_{max}^{pH\,1} = 276,$

$210 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 6\,800, 11\,500$ ),  $\lambda_{max}^{pH\,13} = 275 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 6\,960$ ).

Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose zeigt einen einzelnen Flecken mit einem  $R_f = 0,91$  ( $H_2O$ ).

Analyse  $C_{10}H_{14}N_2O_5$ :

berechnet: C 49,58 H 5,83 N 11,57 %

gefunden: 49,55 5,80 11,87 %

### Beispiel 12

#### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidone

Eine Suspension von 520 mg (0,963 mmol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 10, in 12 ml trockenem Methanol wird in einer Lösung von 38 mg (1,65 mmol) Natrium in 3 ml trockenem Methanol behandelt. Die Mischung wird 1 Stunde am Rückfluß gehalten und bei vermindertem Druck zur Trockene konsentriert. Es werden etwa 20 ml Wasser zur dem Rückstand gegeben und das unlösliche Methyl-p-nitrobenzoesäure entfernt und gut mit Wasser gewaschen.

87

Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden mit 4 g feuchtem Dowex 50W-X4 ( $H^+$ )-Harz 10 Minuten behandelt. Das Harz wird entfernt, mit Wasser gewaschen und das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden mit dreimal je 30 ml Äther extrahiert. Die Wasserschicht wird filtriert und bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Der Rückstand (190 mg) wird in Methanol gelöst und filtriert und das Filtrat wird bis auf etwa 2 ml konzentriert. Es wird über Nacht bei  $5^{\circ}$  gehalten, wonach die Lösung 175 mg (75 %) 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon mit einem  $P = 187 - 191^{\circ}$  ergibt.

### Beispiel 13

#### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-uracils

Eine Suspension von 130 mg (538  $\mu$ mol) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 11, in 5 ml Methanol wird mit 0,5 ml 31 %igem Chlorwasserstoff in Methanol behandelt und die gesamten Feststoffe lösen sich sofort auf. Das Ultraviolettabsorptionsspektrum der Reaktionslösung wird periodisch überprüft und nach etwa 93 Stunden kann keine Änderung mehr festgestellt werden. Die Lösung wird zur Trockene konzentriert und der Rückstand wird von Chlorwasserstoffspuren durch Ab-

destillieren von mehreren Anteilen Benzol und Methanol bei vermindertem Druck befreit. Der Rückstand wird aus 0,3 ml Methanol kristallisiert. Das Produkt (23,2 mg,  $F = 126 - 127^{\circ}$ ) wird entfernt und eine zweite Fraktion (56,2 mg,  $F = 122,5 - 125,5^{\circ}$ ) wird aus dem Filtrat durch Zugabe von Äther erhalten. Zweimaliges Umkristallisieren der vereinigten Fraktionen aus Methanol unter Zugabe von Äther ergeben 32,2 mg (27 %) 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-uracil mit einem  $F = 125,5 - 126,5^{\circ}$ .

Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in Wasser zeigt eine Zone mit einem  $R_f = 0,88$  beim Besprühen mit verdünntem Kaliumpermanganat. Bei der Dünnschicht-Chromatographie wird das  $\alpha$ -Anomere mit Kaliumpermanganatlösung viel langsamer oxidiert als das  $\beta$ -Anomere.

$$[\alpha]_D = -134^{\circ}, [\alpha]_{578} = -141^{\circ} (C = 0,134 \text{ in } H_2O),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 7} = 264 \text{ und } 205 \text{ m}\mu (\epsilon = 10\,500, 9\,400), \lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 1} = 263 \text{ und } 205 \text{ m}\mu (\epsilon = 10\,130, 8\,900), \lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 13} = 262,5 \text{ und } 213 \text{ m}\mu (\epsilon = 7\,880, 11\,200).$$

Analyse  $C_8H_{12}N_2O_8$ :

berechnet: C 47,37 H 5,30 N 12,28 %

gefunden: 47,57 5,22 11,99 %

BAD ORIGINAL

0098<sup>28</sup>12/1768

Beispiel 14Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-cytosins

Eine Lösung von 300 mg (0,56 mmol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl-3-desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 10, in 4 ml Methanol, das vorher mit Ammoniak bei 0° gesättigt worden ist, wird in einem verschlossenen Rohr über Nacht auf 100° erhitzt. Die klare Reaktionslösung wird zur Trockene konzentriert und es werden 20 ml Wasser zugegeben. Das unlösliche p-Nitrobenzamid wird filtriert und gut mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden vereinigt und mit zweimal je 50 ml Äther gewaschen. Die Wasserschicht wird zur Trockene konzentriert (140 mg). Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose mit Wasser als Lösungsmittel zeigt eine stark ultraviolett absorbierende Zone mit einem  $R_f = 0,75$  (Produkt) und eine schwache Zone mit einem  $R_f = 0,60$  (p-Nitrobenzamid). Der Feststoff wird mit 1,5 ml Methanol verrieben, filtriert und mit zweimal je 0,5 ml Methanol gewaschen. Eine zweite Fraktion wird aus dem Filtrat und den Waschflüssigkeiten erhalten. Die Totalausbeute an 1-(3-Desoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-cytosin mit einem  $F = 225 - 229^\circ$  beträgt 103 mg (82 %).

$$[\alpha]_D = -130^\circ, [\alpha]_{578} = -141^\circ (C = 0,73 \text{ in } H_2O),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{H_2O} = 272,5, 198 \text{ m}\mu (\epsilon = 9\,380, 26\,000), \lambda_{\text{inf}}^{H_2O} = 225 \text{ m}\mu$$

( $\epsilon = 8\,300$ ),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 1} = 282,5, 214 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 13\,400, 10\,000$ ),  
 $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 13} = 273 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 9\,040$ ),  $\lambda_{\text{inf}}^{\text{pH } 13} = 225 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 8\,200$ ).

Analyse  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ :

berechnet: C 47,57 H 5,77 N 18,49 %

gefunden: 47,39 6,02 18,31 %

### Beispiel 15

#### Herstellung des 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-cytosins

Eine Lösung von 300 mg (0,556 mmol) 1-(2,5-Di-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-4-methoxy-2-(1-H)-pyrimidon, hergestellt wie in Beispiel 10, in 36 ml Methanol, das vorher mit Ammoniak bei 0° gesättigt worden ist, wird in einem geschlossenen Rohr 20 Stunden auf 100° erhitzt. Die klare Lösung wird zur Trockene konzentriert und es werden 20 ml Wasser zu dem Rückstand gegeben. Das unlösliche p-Nitrobenzamid wird entfernt und gut mit Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschflüssigkeiten werden mit drei Anteilen Chloroform extrahiert und bei vermindertem Druck zur Trockene konzentriert. Beim Umkristallisieren des zurückbleibenden Feststoffes aus Methanol/Äther ergeben sich 99 mg (80 %) 1-(3-Desoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-cytosin, mit einem  $F = 224 - 230^\circ$ . Die Dünnschicht-Chromatographie auf Zellulose in

BAD ORIGINAL

00-1117-1758

Wasser zeigt einen ultraviolettabsorbierenden Flecken mit einem  $R_f = 0,75$ .

$$[\alpha]_D = + 54^\circ, [\alpha]_{578} = + 58^\circ \quad (c = 0,71 \text{ in } H_2O),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{H_2O} = 272,5, 232,5, 215 \text{ m}\mu \quad (\epsilon = 8\,920, 6\,780, 7\,450),$$

$$\lambda_{\text{max}}^{pH\,1} = 280, 215 \text{ m}\mu \quad (\epsilon = 13\,100, 7\,510), \quad \lambda_{\text{max}}^{pH\,13} = 272,5, 232,5 \text{ m}\mu \quad (\epsilon = 8\,920, 6\,810).$$

Analyse  $C_9H_{13}N_3O_4$ :

berechnet: C 47,57 H 5,77 N 18,49 %

gefunden: 47,49 5,80 18,53 %

Wie oben bereits ausgeführt, zeigen die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen wertvolle antibakterielle Aktivität gegen verschiedene Bakterienstämme. Die Ergebnisse von Versuchen in vitro (Agar-Diffusionsmethode) sind in der folgenden Tabelle veranschaulicht. Dieser Test, bei dem 7 mm Scheiben, eingeweicht mit 1 mg/ml wässriger 5-Fluor-3'-desoxyuridinlösung, verwendet werden, ist dem für Penicillin in Analytical Microbiology, 1963, Academic Press, Inc., Seite 327, beschriebenen Test ähnlich, mit der Ausnahme, dass die Testorganismen die angegebenen verschiedenen Bakterien sind und dass ein 10 %iges Pferdeserum-Agarmedium mit den folgenden Bestandteilen hergestellt wird: Natriumcitrat, Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat, Glucose, Dikaliumhydrogenphosphat,



Kaliumdihydrogenphosphat und entionisiertem Wasser.

TABELLE A

Aktivität in vitro von 5-Fluor-3'-desoxyuridin

<u>Typ der Testorganismen</u>	<u>Inhibierungszone: mm</u>
Escherichia coli	25
Bacillus sp.	10
Staphylococcus aureus	13
Xanthomonas vasicatoria	17

Die folgende Tabelle B zeigt die antibakterielle Aktivität in vitro von einer erfindungsgemäss erhältlichen Verbindung bei verschiedenen Konzentrationen.

TABELLE BAktivität in vitro von 5-Fluor-3'-desoxyuridin

<u>Typ der Testorganismen mg/ml</u>	<u>Inhibierungszone: mm</u>			
	<u>0.2</u>	<u>0.05</u>	<u>0.0125</u>	<u>0.0031</u>
<i>Proteus vulgaris</i>	30	26	22	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	22	17	12
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	34	28	22	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	28	25	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	26	18	11
<i>Escherichia coli</i>	29	24	18	13
<i>Bacillus subtilis</i>	40	37	33	27

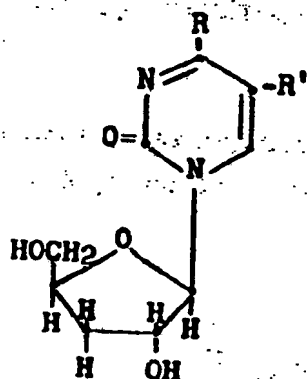
Wie aus den Testergebnissen von Tabelle A und Tabelle B zu  
ersehen ist, hat 5-Fluor-3'-desoxyuridin, eine erfindungs-  
gemäss erhältliche Verbindung, einen weiten Bereich anti-  
bakterieller Aktivität gegen eine Anzahl verschiedener  
Bakterien.

P 16 20 047. 8-44  
Merck & Co., Inc.

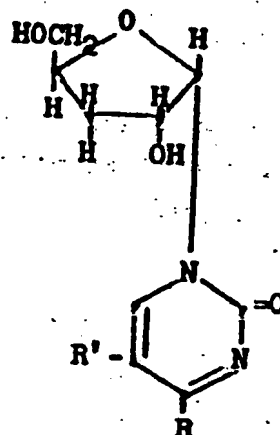
5. November 1969  
10 043 (M 71 381)

# Patentansprüche

## 1. Verbindungen der allgemeinen Formel



oder



worin R und R', die gleich oder verschieden sein können, Alkoxy, Hydroxy, Amino oder subst.-Amino und R' zusätzlich Wasserstoff, Alkyl oder Halogen bedeuten, jedoch R' nicht Wasserstoff sein kann, wenn R Hydroxyl ist.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, worin R' Fluor, Chlor oder Brom ist.
3. Verbindungen nach Anspruch 1, worin R' niedrig-Alkyl ist.
4. 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon.

BAD ORIGINAL

00981271768

10 043

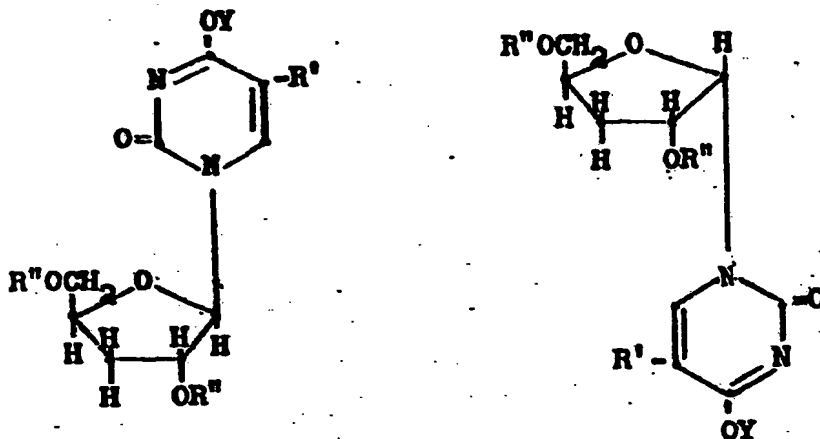
5. 1-(3-Desoxy-D-ribosuranosyl)-cytosin.

6. 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-hydroxy-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon.

7. 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-methyl-2(1-H)-pyrimidon.

8. 1-(3-Desoxy-D-ribofuranosyl)-4-amino-5-fluor-2(1-H)-pyrimidon.

9. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel



worin R' und R'' die oben angegebene Bedeutung besitzen und Y niedrig-Alkyl bedeutet, solvolysiert.

009812/35768

BAD ORIGINAL

10 043

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die solvolysierenden Mittel einen sauren und/oder basischen Katalysator in einem geeigneten Lösungsmittel enthalten, wobei Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure oder Schwefelsäure saure Katalysatoren, Alkalimetalle, Erdalkalimetalle, Hydroxide oder Alkylate basische Katalysatoren und Methanol oder Äthanol Lösungsmittel sind.
11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Solvolyse bei einer Temperatur von etwa 5 bis etwa 120 °C, vorzugsweise von 25 bis etwa 60 °C, und ein paar Minuten bis mehrere Tage lang durchgeführt wird.
12. Verfahren nach Anspruch 9 bis 11 zur Herstellung von 5-Fluor-3-desoxyuridin, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-(2,5-Di-O-benzyl-3-desoxy-D-ribofuranosyl)-4-methoxy-5-fluor-2-(1-H<sup>+</sup>-pyrimidon in Gegenwart von Methanol und Natriumhydroxid etwa 1,5 Stunden bei etwa 60 °C erhitzt.
- - - - -